



TITLE:

# 自由:36 $\beta$ グロビン遺伝子領域の RFLPによるマカクの種間および種 内変異(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

針原, 伸二; 清水, 宏次

---

CITATION:

針原, 伸二 ...[et al]. 自由:36  $\beta$ グロビン遺伝子領域のRFLPによるマカクの種間および種内  
変異(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1995, 25: 103-104

ISSUE DATE:

1995-11-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164652>

RIGHT:

れている。この本体はヒトのアルブミンを泡沫化したものであり、静脈注射された場合は肺でアルブミンに変化する。クモ膜下腔に注入した場合の影響は家兎で調べたが、神経組織に対しては無害であることが確認されている。

しかしながら霊長類以外の動物ではクモ膜下腔が細く、馬尾部がほとんどなく超音波エコーでの観察は不可能である。サルでは脊髓円錐が第3腰椎高位にあり、第4～7腰椎部では馬尾部となっており、ヒトに極めて類似し、同部での超音波エコーによる観察が可能である。

実験殺の予定されたアカゲザルにおいて、全身麻酔後、実験殺前に腰椎部の椎弓切除をし、クモ膜下腔にアルブネックスを注入し、ヒトの術中超音波エコー診断装置を用いて脳脊髄液の動態を観察した。なお実験開始から実験殺までの所用時間は約30分であった。実験殺の後、馬尾部を摘出し、光顕的組織学的検討を行った。

実験結果として、アルブネックスが脳脊髄液の超音波エコー上の造影効果があることは判明したが、今回は脳脊髄液の動態をとらえるまでには至らなかった。また組織学的検討で、アルブネックスが霊長類のクモ膜、馬尾神経においても形態学的に影響を認めないとおが確認された。

自由：35

#### 霊長類・嗅覚器官に関する分子生物学的研究

宮脇敦史・松下文雄（東大・医科研・化学）

我々はマウス鋤鼻器に特異的に発現する二つのリボカリン蛋白質の遺伝子をクローニングし、報告した。リボカリン蛋白質は、疎水性、脂溶性、揮発性の低分子を運搬する分泌性蛋白質であり、一般の嗅上皮の粘液層にも存在し、揮発性におい分子の感知に必須の働きをするものと考えられている。鋤鼻器は、殊にゲッ歯類に於いて顕著に発達しており、フェロモンを感知する器官である。動物個体間の化学的伝達に関わり、性行動、授乳行動、社会行動の確立に必要な器官である。我々がクローニングしたリボカリン（VNSP I, VNSP II）は、鋤鼻器感覚上皮をおおう粘液層に認められ、哺乳類動物のフェロモンとして揮発性分子が働くことが示唆される。昨今、ヒトのフェロモンの存在、媚薬の効能が云々されているが、そも

そもヒトに鋤鼻器が在るのか否かは未だ論議が多い。ヒトとゲッ歯動物をつなぐべき霊長類を扱うことで、鋤鼻器の系統発生に着目できると考えた。霊長類に於いては、原猿類、真猿類の新世界ザルには鋤鼻器が有り、真猿類の旧世界ザル、類人猿には無いとされている。原猿類、真猿類にわたって十数種類のゲノムDNA（竹中教授によるサンプル）を用いて、先のVNSP I, VNSP IIをプローブとしてズープロッティングを行った。陽性対照のマウス以外にはシグナルが認められず、この遺伝子が種間でそれほど保存されていないことが示された。ハイブリダイゼーションの条件を変えることで、この遺伝子の種間変更の度合いを検討している。また、旧世界ザル（ニホンザル）の鼻中隔組織からRNAを抽出し、VNSP I, VNSP IIに相当するcDNAをクローニングしつつある。この分子を追跡することで、サル世界に観られるケミカルコミュニケーションを解析できればと考えている。

自由：36

#### βグロビン遺伝子領域のRFLPによるマカクの種間および種内変異

針原伸二（東京大学・理・人類）  
清水宏次（鳴門教育大・学校教育）

本研究ではカニクイザルなどマカク属サルの、βグロビン遺伝子領域にみられる変異を解析し、種内および種間変異性についての記載と考察をめざすものである。今年度は竹中らの1988年の調査で得た、タイのカニクイザルの試料について、γグロビン遺伝子の重複の有無の確認、βグロビン遺伝子族の領域にみられるRFLPの検出を試みた。

ニホンザルでは、ヒトと同様に胎児型ヘモグロビン遺伝子は、重複により2つあること（GγおよびAγグロビン遺伝子）が清水らの以前の研究でわかっていた。今回はカニクイザルでも遺伝子重複がみられるかどうかを、HPLC法によるPCR増幅産物の定量分析で検討した。その結果は良好ではなかったが、生成された産物はヒトの場合と同じ大きさであることは確認された。また生成された産物を制限酵素、BamH Iにより切断したところ、

2これまでのところ、タイのカニクイザルでは

どの個体も1カ所の切断点があるが、変異は検出されなかった。

$\beta$ グロビン遺伝子に関してのSouthernハイブリダイゼーションでは、制限酵素Ava IIとBamH Iについての結果をみるかぎりでは変異はみられていない。

今までのところ、タイのカニクイザルではRFLPの変異は観察されていないが、今後 はもっと多くの制限酵素を用い、多くの部位を調べることにより、変異性の有無や程度を検討していきたい。また、違う地域のカニクイザルやスラウェシマカクなど異なる種についての解析も予定しており、種あるいは地域集団に特異的な変異やそれぞれの種内変異性について記載し、 $\beta$ グロビン遺伝子領域の塩基の変異が系統解析などに有効かどうかなどを考察したい。

#### 自由: 37

##### リボソームRNA遺伝子からみたマカク類の種内変異

鈴木 仁 (東京慈恵会医科大学・医科研)

本研究の目的は(1)リボソームDNA(rDNA)のスペーサー上の制限酵素断片長の多型性(RFLP)を指標とし、マカク類の系統分類学的類縁関係を明らかにし、さらに(2)地域間変異についても同様の手法で解析することである。これによりマカク類各種が保有する地域集団について核の遺伝子からみた進化的位置づけが可能になると思われる。

これまで報告したように、Foodenに従ってマカク属を19種に分類すると、これらは以下の3つのグループに分けることができた。(A)バーバリマカク、(B)ブタオザル類(ブタオザル、シシオザル、スラウェシ島の7種)、(C)アカゲザル類(ニホンザルを含む他の9種)である。そしてB・Cの分岐はおおよそ500万年前、A・(BC)間の分岐は100-200万年前と見積もられた。アカゲザル類の中では調べた24個の制限酵素サイト内、0.5-2個のサイトの変異しかないので、DNA小断片の欠失挿入変異も考慮した。18S rRNA遺伝子5'末端上流スペーサーのBclIサイト付近の約500bpの欠失(18 $\Delta$ )と28S下流のPvuIIサイト付近の約200bpの欠失(28 $\Delta$ )が認められた。これら

の変異を含めてアカゲザル類の類縁関係をみると、3つのグループに分けることができた。(a)ベニガオザル、チベットモンキー、ニホンザル(ヤクザルを含む)、カニクイザル、(b)アカゲザル、タイワンザル、(c)トクモンキー、アッサムモンキー、ボンネットモンキーの3つである。ベニガオザルとチベットモンキーに関しては調べたサイト及び欠失の変異に関する限り、すべて同一であり、またヤクザルとは28 $\Delta$ の有無に関してのみ変異が認められた。アカゲザルとタイワンザルの違いはアカゲザルにおいて18S上流のEcoRIサイトでゲノムの半量で新しい変異が蓄積しているだけの差であった。この変異量はニホンザルとヤクザルの種内変異量に相当している。今後、さらに分布域の広いアカゲザル、カニクイザルの各地域集団の変異のパターンについて解析する必要があると思われる。

#### 自由: 39

##### 霊長類におけるMHC 遺伝子群の構造と機能の解析

猪子英俊 (東海大学・医学部・分子生命科学)

高田 肇 (東海大学・医学部・分子生命科学)

免疫応答を制御し、顕著な遺伝的多型性をしめすMHC 遺伝子群は、多重遺伝子族に属し、進化的に興味ある領域である。本研究は、最終目的として霊長類のMHC 遺伝子群の構造とバルスフィールド電気泳動や、クローニングにより解析することにより、遺伝子群の進化の道筋を解明することを念頭に、昨年度に明らかにしたMHC 抗原の発現が減少しているサル個体の家系の分析とサルのギランバレー症候群様症状を呈するHLA 抗原を調べることににより、サルにおけるMHC 抗原の遺伝的解析を行った。

昨年度の研究においてみいだした、MHC クラスII抗原の発現が通常の $\frac{1}{5}$ に低下している個体について、その家系調査を施行したが現在までのところこの個体と同様に、MHC クラスII抗原の発現が低下している個体はみだすことができなかった。この事実は、クラスII抗原の低下が遺伝的劣性によるものか、それとも遺伝的変異にもとづくものではないと考えられる。

ヒトでは、ギランバレー症候群はHLA-B35と強く相関することが知られている。そこで、霊長